مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۳، شماره ۴، سال ۱۳۹۶

ارزیابی مقاومت به بیماری سفیدک پودری در تعدادی از ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم ایران

Evaluation of Resistance to Powdery Mildew Disease in some of Iranian Genotypes of *Hordeum spontaneum*

مهدی زهراوی[۱]، سهیل نوروزی[۲]، مهران پاتپور[۱] و محمدرضا بی‌همتا[۳]

۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۳- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۱۴

چکیده

زهراوی، م.، نوروزی، س.، پاتپور، م. و بی‌همتا، م. ر. ۱۳۹۶. ارزیابی مقاومت به بیماری سفیدک پودری در تعدادی از ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم ایـران. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۳: ۲۶- ۴۴۱.**

به‌منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و تعیین ژن‌های مقاومت در ژرم‌پلاسم جو اسپانتانئوم ایـران، ۲۹ ژنوتیپ از کلکسیون جو وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور جدایـه‌هـای عامل بیماری از مزارع آلوده در کرج، ساری و زرقان جمع‌آوری و در گلخانه بـر روی گیاهچـه رقـم حسـاس افضل تلقیح و به‌صورت تک‌کلنی تکثیر شدند. با استفاده از نوزده لاین تقریباً ایزوژنیک، پنج پاتوتیـپ متفـاوت، متمایز شد. ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در گلخانه توسط پاتوتیپ‌های مذکور و در مرحله گیاهچه‌ای انجام شـد. نتایج بررسی واکنش لاین‌های افتراقی نشان داد که جدایه کرج ۲ دارای توان بیماری‌زایی بـالاتری نسـبت بـه جدایه‌های دیگر بود. در هیچ یک از جدایه‌ها، فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های *Mla9* ،*Mla3* ،*Mlal+Ml(A12)*، *Mla13+Ml(Ru3)* و *mlo5* وجود نداشت، بنابراین این ژن‌ها دارای مقاومت مـؤثر در هـر سـه منطقـه آزمـایش بودند. روابط بین جدایه‌ها با ترسیم بای‌پلات مقیاس‌بندی چندبعدی مبتنی بر ماتریس فاصله، مورد بررسی قـرار گرفت. از بین ژرم‌پلاسم جو اسپانتانئوم مورد بررسی، فقط ژنوتیپ ۳۱۴ در برابر تمام جدایه‌ها واکنش مقاومـت نشان داد. الگوی واکنش ژنوتیپ‌های ۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵ نسبت به جدایه‌های مورد بررسـی بـا واکنش هیچ‌کدام از نوزده لاین ایزوژنیک مطابقت نداشت. بنابراین می‌توان وجود ژن(های) مقاومتی به غیر از ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورد بررسی را در این ژنوتیپ‌ها احتمال داد. نتایج این تحقیق بر وجود منابع مقاومت به سفیدک پودری در ژرم‌پلاسم جو اسـپانتانئوم ایـران و احتمـال حضـور ژن مقاومـت جدید دلالت داشت.

واژه‌های کلیدی: جو، ژرم‌پلاسم، لاین ایزوژنیک، سفیدک سطحی، ژن مقاومت.

نویسنده مسئول: mzahravi@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۳۲۷۰۱۲۶۰

مقدمه

بیماری سفیدک پودری با عامل قارچی *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* DC. f. sp. *hordei* Em. Marchal یکی از گسترده‌ترین بیماری‌های جو است (Repkova *et al.*, 2006). اپیدمی این بیماری منجر به کاهش عملکرد دانه، علوفه و کیفیت مالت می‌شود. ثابت شده است که جو وحشی اسپانتانئوم (*Hordeum spontaneum*) منبع غنی برای ژن‌های مقاومت به بیماری سفیدک پودری است (Williams, 2003). این امر ناشی از گزینش طبیعی میزبان تحت ظهور عامل بیماری در زمان طولانی است که سبب ایجاد پلی‌مورفیسم در مکان‌های ژنی مقاومت (R) در جمعیت‌های وحشی جو شده است (Repkova *et al.*, 2006). ژنتیک مقاومت به این بیماری، تعداد زیادی ژن را در بر می‌گیرد (Jorgensen, 1994). تحقیق پیرامون عمل ژن‌های مذکور در حال انجام است و خصوصیات پروتئین‌های R لازم برای فعال‌سازی سیستم دفاعی مشخص شده است (Ayliffe and Lagudah, 2004؛ Panstruga and Schulze-Lefert, 2002؛ Williams, 2003؛ Zhou *et al.*, 2001). تمام هفت کروموزوم جو دارای ژن‌های مقاومت شناسایی‌شده هستند و ژن‌های جدید به‌طور مستمر در حال بررسی و تعیین مکان در ژنوم جو هستند. یورگنسن (Jorgensen, 1994) خلاصه‌ای از مکان‌های ژنی مربوط به ژن‌های وابسته به نژاد (Race-specific) که مقاومت به سفیدک پودری را اعطاء می‌کنند، ارائه کرد. موسمن و همکاران (Moseman *et al.*, 1981) گزارش کردند که بسیاری از نمونه‌های ژنتیکی *H. spontaneum* جمع‌آوری شده در فلسطین اشغالی حاوی بیش از یک ژن برای مقاومت به سفیدک پودری هستند. سگال و همکاران (Segal *et al.*, 1980) و فیشبک (Fischbeck, 1981) اظهار داشتند که حدود پنجاه درصد نمونه‌های ژنتیکی مقاوم جمع‌آوری شده از جمعیت‌های طبیعی *H. spontaneum* در فلسطین اشغالی دارای ژن‌های مقاومتی هستند که به خانواده ژنی *Mla* تعلق ندارند. جاهور و فیشبک (Jahoor and Fischbeck, 1987) تعداد ۴۲ لاین اشتقاق‌یافته از نتاج F7 حاصل از تلاقی ارقام جو با نمونه‌های ژنتیکی متفاوت *H. spontaneum* جمع‌آوری‌شده از فلسطین اشغالی را توسط سه جدایه سفیدک پودری مورد ارزیابی قرار داده و نتیجه گرفتند که جمعیت طبیعی جو وحشی اسپانتانئوم در فلسطین اشغالی، خزانه ژنتیکی بزرگی را برای مقاومت به سفیدک پودری تشکیل می‌دهد. دریسیتل و باکلمن (Dreiseitl and Bockelman, 2003) تعداد ۱۳۸۳ نمونه ژنتیکی جو اسپانتانئوم از کلکسیون غلات دانه‌ریز USDA را برای مقاومت به سفیدک پودری در جمهوری چک غربال کردند. نتایج تحقیق نشان داد که تعداد

۱۲۳ نمونه ژنتیکی نسبت به ۲۲ پاتوتیپ در ارزیابی گلخانه‌ای و همچنین در بررسی مزرعه‌ای مقاومت نشان دادند. آن‌ها اظهار داشتند که نمونه‌های مذکور منابع نویدبخشی در اصلاح جو برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری هستند. دریسیتل و دینور (Dreiseitl and Dinoor, 2004) واکنش ۱۲۱ نمونه جو اسپانتانئوم متعلق به ناحیه مدیترانه و بیست رقم استاندارد را نسبت به ۳۸ جدایه جمع‌آوری‌شده از فلسطین اشغالی ارزیابی کردند. هیچ‌گونه واکنش سازگاری بر روی ژن‌های *mlo* و *Mlhb2* و همچنین در نمونه ژنتیکی PI 466634 مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده وجود تنوع وسیعی در منابع جدید مقاومت بود. ریکووا و همکاران (Repkova *et al.,* 2006) چهار نمونه ژنتیکی جو اسپانتانئوم مقاوم به سفیدک پودری را با هدف تعیین تعداد ژن‌های مسئول مقاومت در هر نمونه، نوع مقاومت ژن‌ها و ارتباط آن‌ها با مکان ژنی *Mla*، مورد بررسی قرار دادند. در یک نمونه ژنتیکی، یک مکان ژنی مسئول مقاومت شناسایی شد که با مکان ژنی *Mla* بر روی کروموزوم 1HS در ارتباط بود. همچنین در سه نمونه ژنتیکی دیگر، دو مکان ژنی مستقل برای کنترل مقاومت شناسایی شد. نقوی و همکاران (Naghavi *et al.,* 2001) با بررسی توارث‌پذیری و نحوه عمل ژن برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری در جو، تعداد ژن را بسته به نوع صفت و تلاقی بین یک تا دو ژن برآورد کرد. شفاءالدین و همکاران (Shaffaaedin *et al.,* 2003) واکنش ۲۷۸ نمونه جو بومی دوردیفه مناطق غرب کشور را نسبت به بیماری سفیدک پودری بررسی کردند. نتایج نشان داد که نمونه‌های مزبور از نظر واکنش به سفیدک پودری بسیار متنوع بوده و دامنه تغییرات این صفت در کرج از مصون تا بسیار حساس (صفر الی نه) و در گرگان از مقاوم تا بسیار حساس (دو الی نه) ارزیابی شد. پاتپور و همکاران (Patpour *et al.,* 2005) پراکنش و تغییرات بیماری‌زایی عامل بیماری سفیدک پودری را در سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۱ با کاشت هفده لاین تقریباً ایزوژنیک (Near isogenic lines) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیماری‌زایی برای ژن *Mlk* دارای بیشترین پراکنش در مناطق مورد اجرای آزمایش بود و پس از آن به‌ترتیب برای ژن‌های *Ml(La)*، *Ml9* و *Mla18* بیماری‌زایی ثبت شد. نتایج بررسی مقاومت ۴۴ لاین پیشرفته جو دیم نسبت به بیماری سفیدک پودری در کرج و گرگان توسط پاتپور و همکاران (Patpour *et al.,* 2006) نشان داد که در مرحله گیاه کامل در گرگان، چهار لاین دارای واکنش مقاومت و در کرج، شش لاین مصون و چهار لاین مقاوم بودند.

با توجه به مطالب ذکر شده، تحقیق حاضر به‌منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و تعیین ژن‌های مقاومت در ژرم‌پلاسم جو اسپانتانئوم ایران متعلق به کلکسیون جو وحشی

بانک ژن گیاهی ملی ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۹ ژنوتیپ ایرانی جو اسپانتانئوم (*H. spontaneum*) از کلکسیون جو وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران برای مطالعه واکنش مقاومت نسبت به بیماری سفیدک پودری مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدایه‌های عامل بیماری از مزارع آلوده در کرج، ساری و زرقان در سال زارعی ۸۹-۱۳۸۸ جمع‌آوری و به گلخانه واحد پاتولوژی بخش تحقیقات غلات در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انتقال داده شدند. برگ‌های آلوده بر روی گیاهچه رقم حساس افضل تلقیح شدند، سپس از طریق جداسازی تک‌کلنی و تکثیر مجدد، نسبت به خالص‌سازی جدایه‌ها اقدام شد. جدایه‌های خالص‌شده بر روی لاین‌های افتراقی در سه تکرار، تلقیح شدند. بدین منظور از نوزده لاین تقریباً ایزوژنیک با والد مادری Pallas که از دانشگاه واگنیگن کشور هلند تهیه شده بود، استفاده شد.

با مقایسه واکنش لاین‌های افتراقی، پاتوتیپ‌های متفاوت متمایز و به‌منظور ارزیابی ژنوتیپ‌ها در نظر گرفته شد. ارزیابی ژنوتیپ‌ها در گلخانه و در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد. بدین منظور بذر ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم در گلدان در سه تکرار کشت شد. عمل تلقیح، ده روز پس از کشت بذور، از طریق مالش برگ‌های آلوده رقم افضل بر روی برگ گیاهچه ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم انجام گرفت. ژنوتیپ‌های تلقیح‌شده با هر جدایه (پاتوتیپ) در یک سینی قرار داده شد و با درپوش پلاستیکی از ژنوتیپ‌های تلقیح‌شده توسط جدایه‌های دیگر مجزا شد. دمای گلخانه در طول رشد گیاهچه‌ها، انجام تلقیح و ارزیابی بین ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

واکنش مقاومت گیاهچه‌ها ده روز پس از تلقیح بر اساس مقیاس صفر تا چهار مینز و دیتز (Mains and Dietz, 1930) بررسی شد. با بررسی واکنش لاین‌های افتراقی، فاکتورهای بیماری‌زایی در پاتوتیپ‌های مورد بررسی تعیین شد. میزان شباهت بین پاتوتیپ‌ها از طریق محاسبه فواصل اقلیدسی به‌دست آمد. روابط بین پاتوتیپ‌ها با استفاده از ترسیم بای‌پلات مقیاس‌بندی چندبعدی مبتنی بر ماتریس فاصله بین پاتوتیپ‌ها بررسی شد. با مقایسه الگوی واکنش ژنوتیپ‌ها با الگوی واکنش لاین‌های افتراقی، حضور احتمالی ژن‌ها در آن‌ها مشخص شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

منشأ ژنوتیپ‌های جو وحشی اسپانتانئوم مورد بررسی و مشخصات لاین‌های تقریباً ایزوژنیک جو در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- منشأ ۲۹ ژنوتیپ جو وحشی اسپانتانئوم مورد بررسی در آزمایش ارزیابی مقاومت به بیماری سفیدک پودری

Table 1. Origin of 29 genotypes of *Hordeum spontanuem* under study for evaluation of resistance to powdery mildew disease

No. شماره	Accession کد دسترسی	Origin	منشاء	No. شماره	Accession کد دسترسی	Origin	منشاء
1	220	Lorestan	لرستان	16	758	Khuzestan	خوزستان
2	310	Tehran	تهران	17	759	Khuzestan	خوزستان
3	312	Tehran	تهران	18	927	Khorasan	خراسان
4	314	Tehran	تهران	19	932	Khorasan	خراسان
5	331	Tehran	تهران	20	969	Ilam	ایلام
6	374	Tehran	تهران	21	971	Ilam	ایلام
7	423	Ilam	ایلام	22	975	Ilam	ایلام
8	425	Ilam	ایلام	23	1006	Kermanshah	کرمانشاه
9	434	West Azarbayjan	آذربایجان غربی	24	1007	Kermanshah	کرمانشاه
10	451	West Azarbayjan	آذربایجان غربی	25	1035	Kermanshah	کرمانشاه
11	456	West Azarbayjan	آذربایجان غربی	26	1040	Kermanshah	کرمانشاه
12	470	East Azarbayjan	آذربایجان شرقی	27	1050	Kermanshah	کرمانشاه
13	494	Tehran	تهران	28	1068	Kermanshah	کرمانشاه
14	495	Fars	فارس	29	1088	Lorestan	لرستان
15	555	Fars	فارس				

جدول ۲- مشخصات لاین‌های تقریباً ایزوژنیک جو برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری

Table 2. Features of near-isogenic barley lines for resistance to powdery mildew disease

No. شماره	Line لاین	Resistance gene ژن مقاومت	No. شماره	Line لاین	Resistance gene ژن مقاومت
1	Pallas	*Mla8*	11	P013	*Mla23*
2	P01	*Mla1,Ml(A12)*	12	P016	*MlK*
3	P02	*Mla3*	13	P017	*MlK(1)*
4	P03	*Mla6, Mla14*	14	P019	*MlP*
5	P04B	*Mla7, Ml(No3)*	15	P020	*Mlat*
6	P08B	*Mla9*	16	P021	*Mlg, Ml(Cp)*
7	P09	*Mla10,Ml(Du2)*	17	P022	*mlo5*
8	P010	*Mla12, Ml(Em2)*	18	P023	*Ml(La)*
9	P011	*Mla13, Ml(Ru3)*	19	P024	*Mlh*
10	P012	*Mla22*			

پس از خالص‌سازی و تکثیر نمونه‌های قارچ عامل بیماری، نسبت به تعیین پاتوتیپ آن‌ها با استفاده از لاین‌های ایزوژنیک اقدام شد. با انجام مقایسه واکنش گیاهچه‌ای ۱۹ لاین ایزوژنیک سفیدک پودری، تعداد پنج جدایه با پاتوتیپ متفاوت برای ارزیابی مواد ژنتیکی در نظر گرفته شد. نتایج بررسی نشان داد که لاین‌های PALAS، P04B، P09، P010، P012، P016،P017، P020، P021، P023 و P024 نسبت به تمام پاتوتیپ‌ها حساس بودند (تمام پاتوتیپ‌ها بر روی لاین‌های مذکور بیماری‌زایی داشتند). بر این اساس، تمام پاتوتیپ‌های مورد بررسی برای ژن‌های *Mla8*، *Mla7 + Ml(No3)*، *Mla10 + Ml(Du2)*،

Mla12+Ml(Em2)، *Mla22*، *MlK*، *MlK(1)*، *Mlat*، *Mlg+Ml(CP)*، *Ml(La)* و *Mlh* دارای فاکتور بیماری‌زایی بودند (جدول ۳). لاین‌های P01، P02، P08B، P011 و P022 نسبت به تمام پاتوتیپ‌ها مقاوم بودند و لذا در هیچ‌یک از جدایه‌ها، فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های *Mla1+Ml(A12)*، *Mla3*، *Mla9*، *Mla13+Ml(Ru3)* و *mlo5* وجود نداشت.

با تقسیم تعداد فاکتورهای بیماری‌زایی در هر جدایه بر تعداد کل، توان بیماری‌زایی برای هر جدایه محاسبه شد (جدول ۳). جدایه کرج ۲ با تعداد نوزده فاکتور بیماری‌زایی دارای توان بیماری‌زایی بالاتری نسبت به جدایه‌های کرج ۱، ساری ۱ و زرقان بود. جدایه‌های کرج از لحاظ بیماری‌زایی بر روی یک لاین ایزوژنیک (لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6* و *Mla14*) با یکدیگر متفاوت بودند در حالی‌که جدایه‌های ساری از لحاظ بیماری‌زایی بر روی سه لاین ایزوژنیک تفاوت داشتند (لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6* و *Mla14*، لاین P013 با ژن مقاومت *Mla23* و لاین P019 با ژن مقاومت *MlaP*). جدایه ساری ۲ تنها پاتوتیپ فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای ژن مقاومت *Mla23* و جدایه ساری ۱ تنها پاتوتیپ فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای ژن مقاومت *MlaP* بود. بیشترین تفاوت در بیماری‌زایی بر روی لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6+Mla14* مشاهده شد.

جدایه‌های کرج به‌طور مشترک برای ژن‌های مقاومت *Mla8*، *Mla7+Ml(No3)*، *Mla10+Ml(Du2)*، *Mla12+Ml(Em2)*، *Mla22*، *Mla23*، *MlK*، *MlK(1)*، *MlP*، *Mlat*، *Mlg+Ml(CP)*، *Ml(La)* و *Mlh* دارای فاکتور بیماری‌زایی و برای ژن‌های مقاومت *mlo5*، *Mla3*، *Mla1+Ml(A12)*، *Mla6+Mla14*، *Mla9* و *Mla13+Ml(Ru3)* فاقد فاکتور بیماری‌زایی بودند.

جدول ۳- فرمول غیر بیماری‌زایی/ بیماری‌زایی جدایه‌های سفیدک پودری جو

Table 3. Avirulence/virulence formula of isolates of barley powdery mildew pathogen

نام جدایه Isolate name	تعداد فاکتور بیماری‌زایی Virulence factor number	درصد بیماری‌زایی Pathogenicity (%)	فرمول غیر بیماری‌زایی/بیماری‌زایی Avirulence/virulence formula
Karaj 1	17	65.38	*Mla8, Mla7, Ml(No3), Mla10, Ml(Du2), Mla12, Ml(Em2), Mla22, Mla23, MlK, MlK(1), MlP, Mlat, Mlg, Ml(Cp), Ml(La), Mlh/ Mla1, Ml(A12), Mla3, Mla6, Mla14, Mla9, Mla13, Ml(Ru3), mlo5*
Karaj 2	19	73.08	*Mla8, Mla6, Mla14, Mla7, Ml(No3), Mla10, Ml(Du2), Mla12, Ml(Em2), Mla22, Mla23, MlK, MlK(1), MlP, Mlat, Mlg, Ml(Cp), Ml(La), Mlh/ Mlal, Ml(A12), Mla3, Mla9, Mla13, Ml(Ru3), mlo5*
Sari 1	16	61.54	*Mla8, Mla7, Ml(No3), Mla10, Ml(Du2), Mla12, Ml(Em2), Mla22, Mla23, MlK, MlK(1), Mlat, Mlg, Ml(Cp), Ml(La), Mlh/ Mla1, Ml(A12), Mla3, Mla6, Mla14, Mla9, Mla13, Ml(Ru3), MlP, mlo5*
Sari 2	18	69.23	*Mla8, Mla6, Mla14, Mla7, Ml(No3), Mla10, Ml(Du2), Mla12, Ml(Em2), Mla22, MlK, MlK(1), MlP, Mlat, Mlg, Ml(Cp), Ml(La), Mlh/ Mla1, Ml(A12), Mla3, Mla9, Mla13, Ml(Ru3), Mla23, mlo5*
Zarghan	17	65.38	*Mla8, Mla7, Ml(No3), Mla10, Ml(Du2), Mla12, Ml(Em2), Mla22, Mla23, MlK, MlK(1), MlP, Mlat, Mlg, Ml(Cp), Ml(La), Mlh/ Mla1, Ml(A12), Mla3, Mla6, Mla14, Mla9, Mla13, Ml(Ru3), mlo5*

جدایه‌های ساری به‌طور مشترک برای ژن‌های مقاومت *Mla8*، *Mla7+Ml(No3)*، *Mla10+Ml(Du2)*، *Mla12+Ml(Em2)*، *Mla22*، *MlK*، *MlK(1)*، *Mlat*، *Ml(CP) +Mlg*، *Ml(La)* و *Mlh* دارای فاکتور بیماری‌زایی و برای ژن‌های مقاومت *Mla1+Ml(A12)*، *Mla3*، *Mla9*، *Mla13+Ml(Ru3)* و *mlo5* فاقد فاکتور بیماری‌زایی بودند.

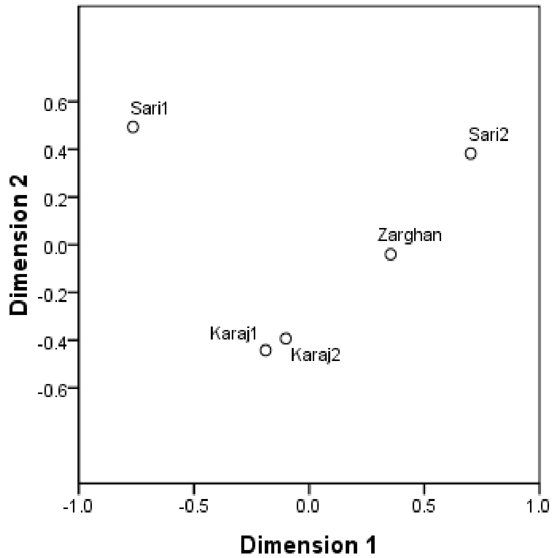
به‌منظور بررسی روابط بین پاتوتیپ‌ها از روش مقیاس‌بندی چندبعدی و ترسیم بای‌پلات مبتنی بر فاصله اقلیدسی استفاده شد (شکل ۱). در نمودار بای‌پلات، جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ نزدیک به هم و جدایه‌های ساری ۱ و ساری ۲ دور از یکدیگر واقع شدند. جدایه ساری ۱ دورترین فاصله را از سایر جدایه‌ها داشت. نزدیکترین فاصله، بین جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ وجود داشت. جدایه زرقان تقریباً به یک اندازه با جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ از سویی و با جدایه ساری ۲، از سوی دیگر فاصله داشت.

نتایج حاصل از واکنش ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم در مقابل جدایه‌های سفیدک پودری در جدول ۴ ارائه شده است. ژنوتیپ ۳۱۴ در برابر تمام جدایه‌ها واکنش مقاومت نشان داد. با توجه مطابقت این نتایج با واکنش لاین‌های ایزوژنیک P01، P02، P08B، P011 و P022، وجود ژن‌های مقاومت *Mla1+Ml(A12)* یا *Mla3* یا *Mla9* یا *Mla13+Ml(Ru3)* یا *mlo5* در ژنوتیپ ۳۱۴ محتمل است.

الگوی واکنش ژنوتیپ‌های ۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵ نسبت به جدایه‌های مورد بررسی با واکنش هیچ‌کدام از نوزده لاین ایزوژنیک مطابقت نداشت. لذا می‌توان وجود ژن(های) مقاومتی به غیر از ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورد بررسی را در این ژنوتیپ‌ها احتمال داد. تعداد ۱۷ ژنوتیپ نیز نسبت به تمام جدایه‌های مورد بررسی حساس بودند.

دندروگرام تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه قرار داد (شکل ۲). ژنوتیپ ۳۱۴ به‌طور مجزا از سایر ژنوتیپ‌ها واقع شد. گروه دوم ده ژنوتیپ را در بر داشت که شامل ژنوتیپ‌های ۴۹۵، ۵۵۵، ۴۲۳، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۷۵۹، ۱۰۰۷، ۳۷۴، ۴۳۴ و ۱۰۰۶ بودند. این گروه خود مشتمل بر سه زیرگروه بود؛ زیرگروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۴۹۵ و ۵۵۵، زیرگروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۴۲۳، ۴۵۱، ۱۰۴۰ و زیرگروه سوم شامل ژنوتیپ‌های ۷۵۹، ۱۰۰۷، ۳۷۴، ۴۳۴، ۱۰۰۶ بود. سایر ژنوتیپ‌ها در گروه سوم قرار گرفتند (شکل ۲).

مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که از بین ۲۹ ژنوتیپ جو اسپانتانئوم مورد بررسی، فقط یک ژنوتیپ (۳/۴ درصد از ژنوتیپ‌ها) در برابر تمام جدایه‌های مورد بررسی مقاوم بود (جدول ۴). در تحقیق شفاءالدین و همکاران (Shaffaaedin *et al.,* 2003) بر روی ۲۷۸ نمونه جو بومی، تعداد معدودی نمونه



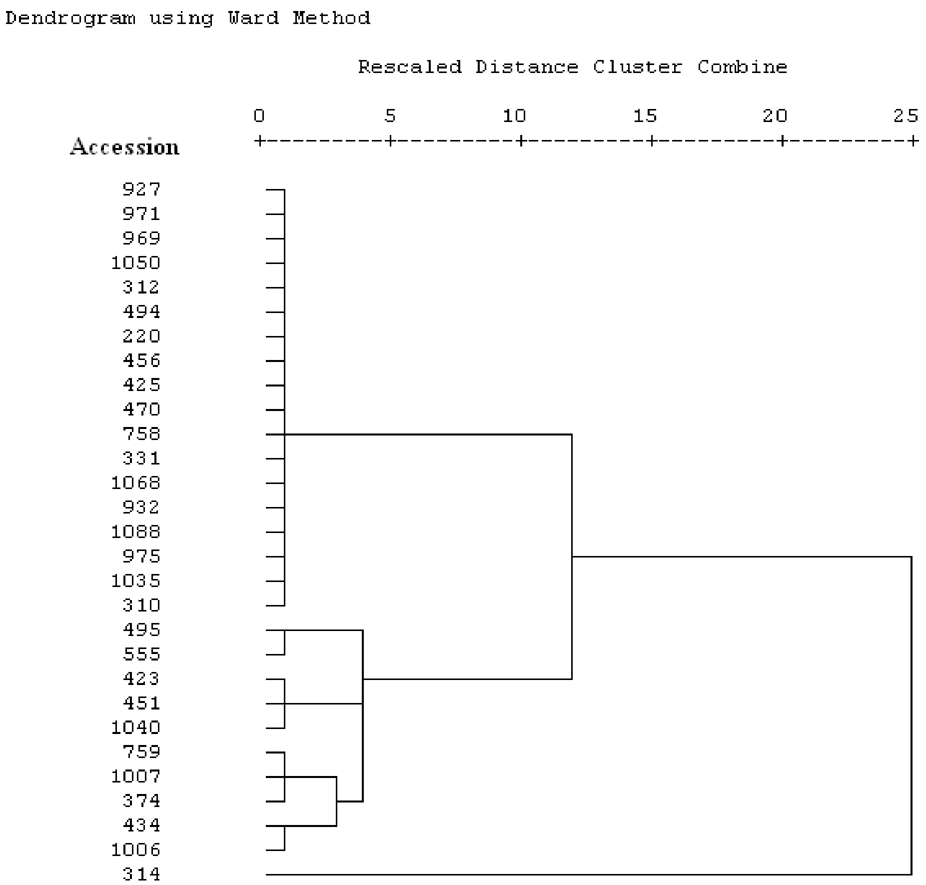
شکل ۱- پراکنش جدایه‌های سفیدک پودری جو در نمودار بای‌پلات مبتنی بر مقیاس‌بندی چندبعدی
Fig. 1. Distribution of isolates of barley powdery mildew disease in biplot on the basis on multidimensional scaling

جدول ۴- واکنش ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم به پنج جدایه سفیدک پودری
Table 4. Reaction of genotypes of *Hordeum spontaneum* to five isolates of barley powdery mildew

شماره	کد دسترسی	جدایه سفیدک پودری				
		Powdery mildew isolate				
No.	Accession	Karaj 1	Karaj 2	Sari 1	Sari 2	Zarghan
1	220	S	S	S	S	S
2	310	S	S	S	S	S
3	312	S	S	S	S	S
4	314	R	R	R	R	R
5	331	S	S	S	S	S
6	374	S	S	S	S	S
7	423	S	S	S	S	S
8	425	S	S	S	S	S
9	434	R	S	R	R	S
10	451	R	S	S	S	S
11	456	S	S	S	S	S
12	470	S	S	S	S	S
13	494	S	S	S	S	S
14	495	S	S	S	R	R
15	555	S	S	S	S	R
16	758	S	S	S	S	S
17	759	S	S	S	S	S
18	927	S	S	S	S	S
19	932	S	S	S	S	S
20	969	S	S	S	S	S
21	971	S	S	S	S	S
22	975	S	S	S	S	S
23	1006	R	S	S	R	S
24	1007	S	S	S	S	S
25	1035	S	S	S	S	S
26	1040	S	R	S	S	S
27	1050	S	S	S	S	S
28	1068	S	S	S	S	S
29	1088	S	S	S	S	S

R: Resistant; S: Susceptible

R: مقاوم؛ S: حساس



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های جو اسپانتانئوم در ارزیابی توسط پنج جدایه سفیدک پودری

Fig. 2. Dendrogram of cluster analysis of genotypes of *Hordeunm spontaneum* in evaluation by five isolates of powdery mildew

در دو منطقه مورد آزمایش، مقاومت نشان دادند به‌نحوی که فراوانی نمونه‌های مقاوم و نیمه‌مقاوم به‌ترتیب ۴/۴ و ۱/۱ درصد در کرج و گرگان بود. در تحقیق دریسیتل و دینور (Dreiseitl and Dinoor, 2004) بر روی ۱۲۱ نمونه جو اسپانتانئوم نیز فقط نمونه ژنتیکی PI 466634 در برابر تمام جدایه‌های مورد بررسی واکنش مقاومت نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد علی‌رغم این‌که ژرم‌پلاسم جو منبع با ارزشی برای مقاومت به سفیدک پودری است ولی برای شناسایی نمونه‌های دارای مقاومت مؤثر باید تعداد زیادی ژنوتیپ مورد ارزیابی قرار گیرد. قرار گرفتن ژنوتیپ ۳۱۴ به‌طور مجزا از سایر ژنوتیپ‌ها در دندروگرام تجزیه خوشه‌ای با نتایج بررسی واکنش مقاومت ژنوتیپ‌ها در تطابق است چرا که ژنوتیپ ۳۱۴ تنها ژنوتیپ با واکنش مقاومت در برابر هر پنج جدایه مورد بررسی بود.

ژن‌های مقاومت *Mla3*، *Mla9*، *mlo5*، *Mla1+Ml(A12)* و *Mla13+Ml(Ru3)* در برابر جدایه‌های هر سه منطقه مورد آزمایش (کرج، ساری و زرقان) واکنش مقاومت نشان دادند. در تحقیق پاتپور و همکاران (Patpour *et al.,* 2005) برای ژن‌های *Mla3*، *Mla6*، *Mla7+MLAb*، *Mlg+MICP*، *Mla13*، *Mlo*، *Mlp*، *Mla16* و *Mla19* در هیچ‌یک از مناطق کشور بیماری‌زایی دیده نشد. بنابراین نتایج این تحقیق از لحاظ مؤثر بودن ژن‌های مقاومت *Mla3* و *Mla13* با تحقیق پاتپور و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. جنسن و همکاران (Jensen *et al.*, 1992) حضور ژن *Mla3* و یک ژن دیگر با پیوستگی نزدیک را که *Ml(Tu2)* نامید، در چندین رقم و والد دهنده آن (Sv57-510/44) گزارش کردند. یورگنسن (Jorgensen, 1992) اظهار داشت ژن *Mla9* در رقم Welam که از رقم Monte Cristo گرفته شده است به همراه دو ژن دیگر (که آن‌ها را *Ml(MC3)* و *Ml(MC4)* نامید) حضور دارد. رقم Rupee به‌عنوان والد دهنده ژن مقاومت *Mla13* شناخته شده است (Jorgensen, 1992). رقم Rupee دو ژن مقاومت با پیوستگی نزدیک (با فاصله ۳/۹ درصد نوترکیبی) دارد. ژن *Mla13* غالب است و ژن دیگر تظاهر شبه‌غالب دارد (Moseman and Jorgensen, 1973). این ژن توسط گیس (Giese, 1981) به‌عنوان *Ml(Ru3)* نامیده شد. *Mla* یکی از مکان‌های ژنی وابسته به نژاد است که خصوصیات ژنتیکی آن به‌طور کامل مورد مطالعه قرار گرفته و ۳۲ آلل شناخته‌شده را در بر می‌گیرد که مجموعه‌ای از آلل‌های حقیقی مربوط به کروموزوم 1H است (Kintzios *et al.,* 1995). لاین Algerian به‌عنوان والد دهنده ژن مقاومت *Mla1* شناخته شده است که به همراه ژنی دیگر به نام *Ml(A12)* حضور دارد (Jorgensen, 1992).

هیچ ژنی با مقاومت مؤثر اختصاصی در هریک از مناطق کرج، ساری و زرقان شناسایی نشد به‌طوری‌که در یک منطقه مؤثر و در دو منطقه دیگر غیر مؤثر باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که فشار انتخابی برای خلق پاتوتیپ جدید یا افزایش جمعیت پاتوتیپ بیماری‌زا، به‌طور اختصاصی در هر یک از مناطق وجود نداشت. تمام جدایه‌های کرج و زرقان و یکی از دو جدایه ساری برای ژن‌های مقاومت *Mla23* و *MlP* دارای فاکتور بیماری‌زایی بودند (جدایه ساری ۱ برای *Mla23* و جدایه ساری ۲ برای *MlP*).

این نتیجه اهمیت لزوم تعدد نمونه‌برداری از قارچ عامل بیماری برای بررسی فاکتورهای بیماری‌زایی و شناسایی ژن‌های مقاومت مؤثر را نشان می‌دهد، به‌طوری که اگر نمونه‌برداری فقط منحصر به جدایه فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای هریک از ژن‌های مقاومت مذکور بود، احتمال داشت به‌عنوان ژن‌های مقاومت مؤثر شناسایی شوند.

تفاوت جدایه‌های کرج از لحاظ فاکتور بیماری‌زایی فقط برای *Mla14 +Mla6* در مقایسه با تفاوت جدایه‌های ساری از لحاظ فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های مقاومت *Mla13*، *MlaP* و *Mla14 +Mla6* نشان‌دهنده تنوع بیشتر موجود در جمعیت پاتوتیپ‌های رایج در ساری است. این تفاوت، در نمودار بای‌پلات حاصل از مقیاس‌بندی چندبعدی با قرار گرفتن جدایه‌های کرج در مجاورت یکدیگر و جدایه‌های ساری دور از یکدیگر، به‌خوبی نشان داده شده است (شکل ۱). دورتر واقع شدن جدایه ساری ۱ از سایر جدایه‌ها ناشی از توان بیماری‌زایی کمتر آن است. علی‌رغم این‌که جدایه زرقان از لحاظ توان بیماری‌زایی شبیه جدایه کرج ۱ بود ولی در نمودار بای‌پلات، جدایه کرج ۱ به جدایه کرج ۲ نزدیک‌تر از جدایه زرقان بود (شکل ۱). علت این امر می‌تواند ناشی از نوع واکنش باشد به عبارت دیگر شباهت پاتوتیپ‌ها به یکدیگر از شباهت آن‌ها در بیماری‌زایی یا عدم بیماری‌زایی در مجموعه واحدی از ژنوتیپ‌ها حاصل می‌شود و نه از توان بیماری‌زایی آن‌ها که حاصل از تظاهر کلی پاتوتیپ است. به عبارت دیگر دو پاتوتیپ که توان بیماری‌زایی مشابهی دارند الزاماً ممکن است مشابه نباشند چرا که توان بیماری‌زایی مشابه ممکن است ناشی از تعداد یکسان فاکتورهای بیماری‌زایی در آن‌ها باشد و نه مشابه بودن فاکتورهای بیماری‌زایی در آن‌ها. استفاده از نمودار بای‌پلات مبتنی بر مقیاس‌بندی چندبعدی توانسته است این تفاوت‌ها را متمایز نماید و از این‌رو استفاده از آن مفید و لازم بود.

در این تحقیق تعداد شش ژنوتیپ (۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵) با ژن مقاومت متفاوتی از مجموعه ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورداستفاده شناسایی شد. به‌منظور تعیین ژن مقاومت در این ژنوتیپ‌ها پیشنهاد می‌شود ارزیابی واکنش مقاومت در این ژنوتیپ‌ها با تعداد زیادتری از پاتوتیپ‌های سفیدک پودری انجام شود. همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی قبلاً شناسایی شده می‌توان احتمال حضور ژن‌های جدید در این ژنوتیپ‌ها را بررسی کرد.

در ارتباط با هفده ژنوتیپ جو اسپانتانئوم با واکنش حساسیت نسبت به تمام جدایه‌های مورد آزمایش، سه احتمال را می‌توان مطرح کرد؛ یا ژنوتیپ‌های مذکور فاقد ژن مقاومت به سفیدک پودری است، یا با توجه به مطابقت این نتایج با واکنش لاین‌های ایزوژنیک Pallas، P04B، P09، P010، P012، P016، P017، P020، P021، P023 و P024، وجود ژن‌های مقاومت *Mla8* یا *Mla7+Ml(No3)* یا *Mla10+Ml(Du2)* یا *Mla12+Ml(Em2)* یا *Mla22* یا *MlaK* یا *MlaK(1)* یا *Mlat* یا *Mlg* و *Mla(CP)* یا *Mla(La)* یا *Mlah*، در این ژنوتیپ‌ها محتمل است و یا این‌که ژنوتیپ‌های مذکور واجد مقاومت در مرحله گیاه بالغ هستند. بر این اساس پیشنهاد می‌شود مطالعه برای وجود مقاومت گیاه

بالغ در این ژنوتیپ‌ها صورت گیرد.

با توجه به مقاومت لاین‌های ایزوژنیک P01، P02، P08B، P011 و P022 در برابر تمام جدایه‌ها، ژن‌های مقاومت *Mla3*، *Mla9*، *mlo5*، *Mla1+Ml(A12)* و *Mla13+Mla(Ru3)* به‌عنوان ژن‌های مؤثر برای مقاومت در سفیدک پودری در سه منطقه مورد آزمایش (کرج، ساری و زرقان) شناسایی می‌شوند. بر این اساس پیشنهاد می‌شود پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی توسط تعداد زیادتری از پاتوتیپ‌ها و تأیید مؤثر بودن مقاومت، از این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاحی مقاومت به سفیدک پودری جو برای مناطق مذکور استفاده شود.

References

Ayliffe, M. A., and Lagudah, E. S. 2004. Molecular genetics of disease resistance in cereals. Annals of Botany 94: 765-773.

Dreiseitl, A., and Bockelman, H. E. 2003. Sources of powdery mildew resistance in a wild barley collection. Genetic Resources and Crop Evolution 50(4): 345-350.

Dreiseitl, A., and Dinoor, A. 2004. Phenotypic diversity of barley powdery mildew resistance sources. Genetic Resources and Crop Evolution 51(3): 251-257.

Fischbeck, G. 1981. Ergebnisse von untersuchungen iiber krankheitsresistenz in Israelischen populationen von *Hordeum spontaneum* lm hmblick auf gegenwartsprobleme der resistenzziichtung. Tagungsbericht der "Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter" Gumpenstein 32: 3-13.

Giese, H. 1981. Powdery mildew resistance genes in the *Ml-a* and *Ml-k* regions on barley chromosome 5. Hereditas 95: 51-62.

Jahoor, A., and Fischbeck, G. 1987. Sources of resistance to powdery mildew in barley lines derived from *Hordeum spontaneum* collected in Israel. Plant Breeding 99(4): 274-281.

Jensen, H. P., Christensen, E., Jorgensen, J. H., and Helms, J. 1992. Powdery mildew resistance genes in 127 Northwest European spring barley varieties. Plant Breeding 108: 210-228.

Jorgensen, J. H. 1992. Multigene Families of Powdery Mildew Resistance Genes in Locus *Mla* on Barley Chromosome 5. Plant Breeding 108: 53-59.

Jorgensen, J. H. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. Critical Review of Plant Science 13: 97-119.

Kintzios, S., Jahoor, A., and Fischbeck, G. 1995. Powdery mildew resistance genes *Mla29* and *Mla32* in *H. spontaneum* derived winter barley lines. Plant Breeding 114: 265-266.

Mains E. B., and Dietz, S. M. 1930. Physiologic forms of barley mildew, *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*. Phytopathology 20: 229-239.

Moseman, J. G., and Jorgensen, J. H. 1973. Differentiation of resistance genes at the *Ml-a* locus in six pairs of isogenic barley lines. Euphytica 22: 189-196.

Moseman, J. G., Baenziger, P. S., and Kilpatrick, R. A. 1981. Genes Gonditioning resistance of *Hordeum spontaneum* to *Erystphe graminis* f. sp. *hordei.* Crop Science 21: 229-232.

Naghavi, M. R., Ghanadha, M. R., Yazdi Samadi, B., and Torabi, M. 2001. Inheritance of resistance to barley powdery mildew at adult plant stage. Seed and Plant 17:140-150 (in Persian).

Panstruga, R., and Schulze-Lefert, P. 2002. Live and let live: Insights into powdery mildew disease and resistance. Molecular Plant Pathology 3: 495-502.

Patpour, M., Torabi, M., Aghnum, R. Dadrezaie, S. T., Afshari, F., and Ahmadian Moghaddam, M. S. 2005. Virulence factors of barley powdery mildew pathogen and their variation in some parts of Iran 2000-2002. Seed and Plant 21: 303-315 (in Persian).

Patpour, M., Dehghan, M. A., and Afshari, F. 2006. Reactions of some Dryland Barley Advanced Lines to Powdery Mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei* Em. Marchal). Seed and Plant 22(3): 431-441 (in Persian).

Repkova, J., Dreiseitl, A., Lízal, P., Kyjovská, Z., Teturová, K., Psotková, R., and Jahoor, A. 2006. Identification of resistance genes against powdery mildew in four accessions of Hordeum vulgare ssp. spontaneum. Euphytica 151(1): 23-30.

Segal, A., Manisterski, J., Fischbeck, G., and Wahl, I. 1980. How plant populations defend themselves in natural ecosystems. In: Horsfall, J. G., and Cowling, E. B. (eds.) Plant Disease Volume V. How Plants Defend Themselves. pp. 76-102. London: Academic Press.

Shaffaaedin, S., Patpour, M., Dehghan, M. A., and Torabi, M. 2003. Study of powdery mildew reaction of two rowed barley landraces from West of Iran. Seed and Plant 19: 25-36 (in Persian).

Williams, K. J. 2003. The molecular genetics of disease resistance in barley. Australian Journal Agricultural Research 54: 1065-1079.

Zhou, F. S., Kurth, J. C., Wei, F. S., Elliott, C., Vale, G., Yahiaoui, N., Keller, B., Somerville, S., Wise, R., and Schulze-Lefert, P. 2001. Cell-autonomous expression of barley *Mla1* confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a Rar1-independent signaling pathway. Plant Cell 13: 337-350.